中国生态农业学报 2017 年 10 月 第 25 卷 第 10 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Oct. 2017, 25(10): 1463−1474

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.170335

付智丹, 周丽, 陈平, 杜青, 庞婷, 杨文钰, 雍太文. 施氮量对玉米/大豆套作系统土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(10): 1463−1474
Fu Z D, Zhou L, Chen P, Du Q, Pang T, Yang W Y, Yong T W. Effects of nitrogen application rate on soil microbial quantity and soil enzymes activities in maize/soybean intercropping systems[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(10): 1463−1474

施氮量对玉米/大豆套作系统土壤微生物数量及土壤酶活性的影响*

付智丹[1], 周 丽[2], 陈 平[1], 杜 青[1], 庞 婷[1], 杨文钰[1**], 雍太文[1**]

(1. 四川农业大学农学院/四川省作物带状复合种植工程技术研究中心/农业部西南作物生理生态与耕作重点实验室 成都 611130; 2. 四川宜宾市农业科学院 宜宾 644000)

摘 要: 为揭示玉米/大豆套作体系下土壤氮素转换的调控机理和根际微生态效应, 以种植模式为主因素[设玉米单作(MM)、大豆单作(SS)和玉米/大豆套作(IMS)3 种处理], 以玉米、大豆施氮总量(玉米、大豆施氮比例为 3∶1)为副因素[设不施氮(NN, 0 kg·hm^{-2})、减量施氮(RN, 180 kg·hm^{-2})和常量施氮(CN, 240 kg·hm^{-2})3 个处理], 研究了玉米/大豆套作系统下不同施氮量对作物根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响。结果表明: 与相应单作相比, 套作下玉米根际土壤真菌、放线菌数量分别提高 25.37%和 8.79%; 套作大豆根际土壤真菌、放线菌、固氮菌数量高于单作大豆; 套作玉米根际土壤蛋白酶、脲酶活性和套作大豆根际土壤蛋白酶活性均显著升高。各施氮水平间, 减量施氮下玉米、大豆根际土壤真菌数量较常量施氮和不施氮均有所提高; 施氮提高了玉米、大豆根际土壤放线菌数量; 大豆根际土壤固氮菌数量以减量施氮最高, 比不施氮和常量施氮高 17.78%和 5.67%; 玉米根际土壤蛋白酶活性、脲酶活性和大豆根际土壤脲酶活性均以减量施氮为最高。适宜的施氮量不仅能增加玉米/大豆套作土壤中真菌、放线菌、固氮菌的数量, 还能提高土壤蛋白酶、脲酶活性, 调节土壤氮素的转化, 促进玉米/大豆对土壤中氮素的吸收, 实现节能增效。

关键词: 玉米/大豆套作; 施氮量; 根际土壤; 真菌; 放线菌; 固氮菌; 土壤酶活性
中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2017)10-1463-12

Effects of nitrogen application rate on soil microbial quantity and soil enzymes activities in maize/soybean intercropping systems*

FU Zhidan[1], ZHOU Li[2], CHEN Ping[1], DU Qing[1], PANG Ting[1], YANG Wenyu[1**], YONG Taiwen[1**]

(1. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University / Sichuan Engineering Research Center for Strip Crop System / Key Laboratory of Crop Eco-physiology and Farming Systems in the Southwest, Ministry of Agriculture, Chengdu 611130, China; 2. Yibin Academy of Agricultural Sciences, Yibin 644000, China)

Abstract: To study the effects of nitrogen rate on soil microbial quantity and enzyme activity in maize/soybean intercropping system, a 2-factor design was developed. The main factor in the design was planting pattern, which included monoculture

* 国家自然科学基金面上项目(31271669, 31671625)和国家重点研发计划(2016YFD0300202)资助
** 通讯作者: 雍太文, 主要从事作物栽培与生理生态研究, E-mail: yongtaiwen@sicau.edu.cn; 杨文钰, 主要研究方向为作物高产栽培, E-mail: mssiyangwy@sicau.edu.cn
付智丹, 主要从事作物栽培与生理生态研究。E-mail: 519706035@qq.com
收稿日期: 2017-04-20 接受日期: 2017-06-08

* This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31271669, 31671625) and the National Key R & D Plan of China (2016YFD0300202).
** Corresponding author: YONG Taiwen, E-mail: yongtaiwen@sicau.edu.cn; YANG Wenyu, E-mail: mssiyangwy@sicau.edu.cn
Received Apr. 20, 2017; accepted Jun. 8, 2017

maize (MM), sole soybean (SS) and maize/soybean relay strip intercropping system (IMS). Then the sub-factor of nitrogen application rate N for maize and soybean were no nitrogen application [0 kg(N)·hm^{-2}, NN], reduced nitrogen application [180 kg(N)·hm^{-2}, RN], and conventional nitrogen application [240 kg(N)·hm^{-2}, CN]. The results showed that the quantities of fungi and actinomycetes in rhizosphere soil of intercropped maize were 25.37% and 8.79% higher than those of monoculture maize, respectively. Also the quantities of soil fungi, actinomycetes and nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere soil of intercropped soybean were higher than those of sole soybean. Soil protease and urease activities in the rhizosphere soil of intercropped maize and protease activity in rhizosphere soil of intercropped soybean significantly increased compared with the corresponding monoculture. Under different nitrogen application rates, the quantities of soil fungi, actinomycetes and nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of maize and soybean were higher under RN than under NN and CN, respectively. In addition, nitrogen application increased the quantity of actinomycetes in the rhizosphere soil of maize and soybean. The quantities of nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere soil of maize were 17.78% and 5.67% higher under RN compared with those under NN and CN, respectively. Moreover, the activities of soil protease and urease in the rhizosphere of maize and activity of soil urease in the rhizosphere of soybean were highest under RN compared with those under NN and CN. Reduced nitrogen fertilization increased the degree of soil microbial and enzyme activities in the rhizosphere of maize/soybean relay strip intercropping system, promoted nitrogen uptake of maize and soybean, and thereby saved fertilizer use.
Keywords: Maize/soybean relay strip intercropping; Nitrogen application rate; Rhizosphere soil; Fungi; Actinomycetes; Nitrogen-fixing bacteria; Soil enzyme activity

土壤酶参与土壤中重要的生物化学循环、有机质及矿物质的转化过程，土壤微生物是土壤养分转化的主要推动者，土壤中生命体内氧化还原反应、化合物水解等许多重要的生物化学反应都是在酶的催化下进行的[1-2]。土壤微生物数量和土壤酶活性对根区土壤环境的变化较为敏感，施肥措施、耕作制度、根系分泌物、土壤水分等均会对其产生显著的影响[3-6]。合理的种植模式能提高土地利用效率、增加单位面积粮食产出[7]。玉米/大豆(*Zea mays* L./*Glycine max* L.)套作模式能高效吸收利用土壤养分资源，调节土壤氮素循环，显著提高玉米、大豆的氮肥利用率[8-9]，在西南地区推广以来，取得了良好的经济、社会和生态效益[10-11]。因此研究间套作系统中不同施氮水平下土壤微生物数量和土壤酶活性的变化特征，对于了解土壤氮素循环、提高间套作系统中氮肥利用率有重要意义。前期研究表明，玉米/大豆套作能提高作物养分吸收，增产节肥[12-13]，增加作物根际细菌数量，调节氨氧化细菌和反硝化细菌群落结构及多样性，改善土壤氮素转化过程[14]，促使大豆根系分泌更多的质子和有机酸，活化难溶磷为利于作物吸收的有效磷[15]，由此推测玉米/大豆套作系统下土壤养分高效利用与增产效应和土壤根际微生态环境相关，尤其是与土壤中微生物数量和酶活的变化相关。Ghosh 等[16]发现，大豆/高粱(*Sorghum bicolor* L.)间作能提高土壤中脱氢酶和硝酸还原酶活性。雍太文等[9,17]研究表明，小麦(*Triticum aestivum* L.)/玉米/大豆套作相较其他模式增加了根际土壤细菌、真菌、放线菌数量，且增强土壤脲酶、蛋白酶、硝酸还原酶活性。张向前等[18]证实，施用氮肥能增加土壤中真菌、放线菌和固氮菌的数量，提高脲酶、磷酸酶、转化酶和蛋白酶的活性。也有研究表明氮肥施用量会影响土壤酶活性[19]。国内外学者围绕单作和长期定位施肥对作物生态环境、微生物数量及酶活性等的影响做了大量研究，为揭示单作中作物养分高效利用的根际微生态变化做出了巨大贡献，但对玉米/大豆套作系统中作物根际土壤微生物数量和酶活性与氮素高效利用吸收的关系报道较少。本研究通过比较玉米、大豆单套作及不同施氮量下作物根际土壤微生物数量及土壤酶活性的差异，明确不同施氮量下玉米/大豆套作系统根际土壤微生物数量、土壤酶活性的动态变化特征以及不同时期的差异性，以揭示玉米/大豆套作体系下土壤氮素转换的调控机理和根际微生态效应，为该体系制定科学的施肥技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点及材料

试验于 2013 年 3 月至 2014 年 10 月在四川省现代粮食产业(仁寿)示范基地(30°07′N、104°18′E)进行。试验地土壤类型为紫色土，供试玉米品种为‘登海 605’，由山东登海种业股份有限公司提供；大豆品种为‘南豆 12’，由四川省南充市农业科学研究所提供。供试土壤 2013 年基础肥力: pH 为 6.6，有机质为 29.8 g·kg^{-1}，全氮为 1.6 g·kg^{-1}，全磷为 1.28 g·kg^{-1}，全钾为 16.3 g·kg^{-1}，速效氮为 317 mg·kg^{-1}，速效磷为 42.2 mg·kg^{-1}，速效钾为 382 mg·kg^{-1}。

1.2　试验设计

大田试验采用二因素裂区试验设计，主因素为种植模式，分别为玉米单作(MM)、大豆单作(SS)和玉米/大豆套作(IMS)；副因素为玉米、大豆施氮总量(玉米、大豆施氮比例为 3∶1)，分别为不施氮(NN, 0 kg·hm^{-2})、减量施氮(RN，180 kg·hm^{-2}，当地玉米施 N 量 75%)和常量施氮(CN，240 kg·hm^{-2}，根据当地玉米与大豆总施 N 量确定)，共 9 个处理，每个处理连续种 3 带，带长 6 m、带宽 2 m，小区面积 36 m^2，重复 3 次。

玉米、大豆种植模式如图 1，单作采用等行距种植，玉米行距 100 cm、大豆行距 50 cm，玉米、大豆穴距 17 cm，穴留 1 株；玉米/大豆套作采用宽窄行种植，套作玉米宽行 160 cm，窄行 40 cm，在玉米大喇叭口期将两行大豆播种于玉米宽行内，套作大豆行距 40 cm，玉米与大豆间距 60 cm，穴距均为 17 cm，玉米穴留 1 株，密度 5.85 万株·hm^{-2}，大豆穴留 2 株，密度 11.7 万株·hm^{-2}，玉米、大豆单作与套作的种植密度相同。玉米氮肥分两次施用，即玉米底肥和大喇叭口期追肥，大豆氮肥一次性作底肥施用(表 1)。玉米、大豆单作按株间穴施方式施肥，玉米/大豆套作按玉米、大豆一体化施肥方式，即玉米底肥统一施 72 kg(N)·hm^{-2}，玉米大喇叭口期追肥与大豆氮磷钾肥混合施用，在玉米、大豆之间，距玉米 25 cm 处开沟施肥，各作物氮肥施用方式及施用量见表 1。单、套作玉米及单作大豆的磷钾肥随底肥施用，玉米 P_2O_5 105 kg·hm^{-2}、K_2O 112.5 kg·hm^{-2}，大豆 P_2O_5 63 kg·hm^{-2}、K_2O 52.5 kg·hm^{-2}。2013 年玉米 4 月 3 日播种，8 月 1 日收获，大豆 6 月 11 日播种，10 月 29 日收获；2014 年玉米 3 月 29 日播种，7 月 26 日收获，大豆 6 月 9 日播种，10 月 28 日收获。

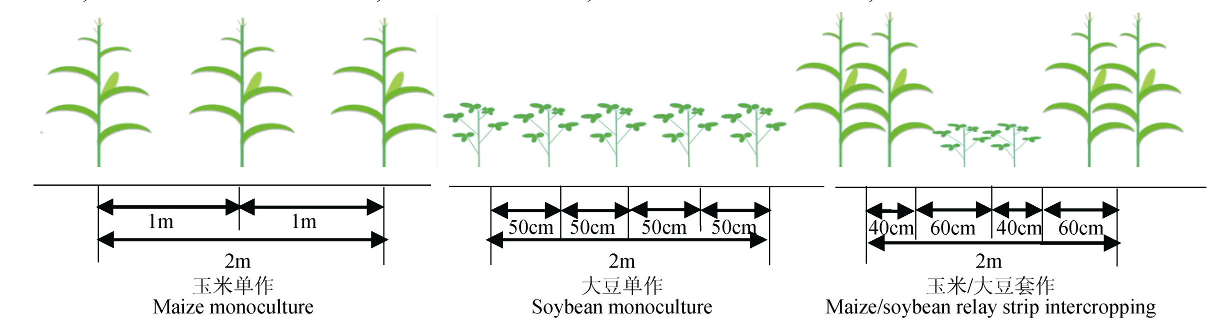


图 1　不同种植模式示意图
Fig. 1　Diagram of different planting patterns

表 1　不同种植模式的氮肥施用量
Table 1　N fertilization rates in different planting patterns and N application treatments　kg·hm^{-2}

种植模式 Planting pattern 名称 Name	代码 Code	施氮处理 N application 名称 Name	代码 Code	施氮总量 Total N application	底肥 Base fertilizer	追肥 Top fertilizer
玉米单作 Maize monoculture	MM	不施氮 No N application	NN	0	0	0
		减量施氮 Reduced N application	RN	135	72	63
		常量施氮 Conventional N application	CN	180	72	108
大豆单作 Soybean monoculture	SS	不施氮 No N application	NN	0	0	0
		减量施氮 Reduced N application	RN	45	45	0
		常量施氮 Conventional N application	CN	60	60	0
玉米/大豆套作 Maize/soybean relay strip intercropping	IMS	不施氮 No N application	NN	0	0	0
		减量施氮 Reduced N application	RN	180	72	108
		常量施氮 Conventional N application	CN	240	72	168

1.3　土壤样品的采集与测定

1.3.1　土壤样品的采集

2013 年至 2014 年，分别于玉米大喇叭口期(V12)、抽雄期(VT)和成熟期(R6)，大豆五节期(V5)、盛花期(R2)、鼓粒期(R5)和成熟期(R8)取根际土。采用挖掘法取土壤样品。每小区随机取长势一致的样地两段，每段取对称 2 行的连续 2 穴，将植株根系从土壤中整体挖出(40 cm 深)，抖掉与根系松散结合的土体，然后用经火焰灭菌的镊子刮取附在根系上的薄层(<10 mm)土壤作为根际土壤。并将取得的两段植株根际土样撵碎混匀按 4 分法取样，取后立即放入冰盒中保存，带回实验室后，迅速过 2 mm 土筛，除去可见根系、动植物残体和石块等杂物，并将一部分保存到 4 ℃冰箱，用于土壤微生物数量测定，

另一部分保存到–20 ℃用于土壤酶活性测定。

1.3.2 土壤样品测定

采用平板计数法培养测定玉米、大豆单套作下 3 个施氮水平土壤中的真菌、放线菌和固氮菌数量，真菌采用马丁氏-孟加拉红培养基，放线菌采用改良的高氏 1 号培养基，自生固氮菌采用阿须贝氏培养基进行选择性培养[20]。土壤蛋白酶活性使用成都华扬博纳生物科技有限公司的土壤蛋白酶试剂盒测定，土壤脲酶活性使用南京建成生物工程研究所提供的土壤脲酶试剂盒测定。

1.4 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据整理和作图。用 DPS 7.05 进行方差分析(LSD 法)，显著性水平设定为 P=0.05。

2 结果与分析

2.1 不同种植模式和施氮量对土壤微生物数量的影响

2.1.1 土壤真菌数量

玉米、大豆根际土壤真菌数量达 10^4 数量级(表 2，表 3)。种植模式对玉米根际土壤真菌数量有显著影响，玉米、大豆共生前的玉米大喇叭口期(V12)为 MM>IMS，共生后 IMS 的玉米根际土壤真菌数量较 MM 两年平均提高 25.37%。施氮有利于提高玉米根际土壤的真菌数量，单套作下均表现为 RN>CN>NN。随生育时期的推进，两年的大豆根际土壤真菌数量呈增加趋势，在 R8 期达到最高(表 3)。大豆根际土壤真菌数量在 R2 期和 R8 期表现为 IMS>SS，其中 R8 期的大豆根际土壤真菌 IMS 比 SS 两年平均提高 3.79%。各施氮水平间，大豆根际土壤真菌数量以 RN 的最高(R2 期除外)，以 R8 期的 RN 最高，R8 期 SS 下 RN 的土壤真菌数量比 NN 和 CN 两年平均提高 10.89% 和 17.22%，IMS 下两年平均提高 11.50%和 6.02%。

2.1.2 土壤放线菌数量

玉米、大豆根际土壤放线菌数量达 10^5 数量级(表 4，表 5)。种植模式会影响玉米根际土壤放线菌的数量，玉米根际土壤放线菌数量随着生育时期的推进而增加，且年际间变化规律一致。玉米根际土壤放线菌数量均为 IMS>MM，R6 期达到最大且有显著差异，R6 期 IMS 下根际土壤放线菌数量比 MM 两年平均提高 11.8%；不同施氮水平间，IMS 下玉米土壤放线菌数量随施氮量的增加而增加，以 CN 为最

表 2 不同种植模式与施氮量下玉米根际土壤真菌数量

Table 2 Fungi number of maize rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments 10^4 cfu·g^{-1}

年份 Year	施氮处理 N application treatment	大喇叭口期(V12) Twelfth leaf (bell stage)		抽雄期(VT) Tasseling stage		成熟期(R6) Full maturity	
		MM	IMS	MM	IMS	MM	IMS
2013	NN	6.04±0.79b	5.48±1.03b	3.20±0.59c	5.24±0.51b	3.78±0.92a	4.88±1.07b
	RN	6.94±1.72a	6.12±0.96a	5.44±0.73a	5.67±0.60a	4.05±2.04b	5.30±0.89a
	CN	6.26±0.28b	5.65±1.29b	4.25±1.48b	5.07±1.23b	3.91±1.33ab	5.42±1.56a
	平均 Mean	6.41±0.18	5.75±0.20*	4.30±0.42	5.33±0.23*	3.91±0.53	5.20±0.35*
2014	NN	2.73±0.40b	2.43±0.79c	2.23±0.25b	2.56±0.64b	2.90±0.89b	3.97±0.76b
	RN	3.74±0.88a	3.49±0.90a	2.80±0.40a	3.05±0.47a	3.55±0.95a	4.28±1.30ab
	CN	3.14±0.91ab	2.90±0.68b	2.73±0.61a	2.74±0.51ab	3.24±0.73ab	4.08±1.21a
	平均 Mean	3.20±0.51	2.94±0.53	2.59±0.31	2.78±0.24	3.23±0.33	4.28±0.46*
		ANOVA					
		F	P	F	P	F	P
2013	种植模式 Planting pattern (A)	143.234	0.006 9	20.08	0.046 4	125.22	0.007 9
	施氮量 N application (B)	83.826	0.000 1	1 362.564	0.000 1	62.242	0.000 1
	A × B	38.848	0.000 1	58.56	0.000 1	5.991	0.025 7
2014	种植模式 Planting pattern (A)	482.840	0.002 1	3.791	0.190 9	8 383.492	0.000 1
	施氮量 N application (B)	400.104	0.000 1	106.836	0.000 1	183.052	0.000 1
	A × B	0.321	0.734 5	12.462	0.003 5	320.265	0.000 1

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著(P<0.05)；IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM (P < 0.05).

表 3　不同种植模式与施氮量下大豆根际土壤真菌数量

Table 3　Fungi number of soybean rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments　10^4 cfu·g^{-1}

年份 Year	施氮处理 N application treatment	五节期(V5) Fifth trifoliolate stage		盛花期(R2) Full bloom stage		鼓粒期(R5) Beginning seed stage		成熟期(R8) Full maturity	
		SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS
2013	NN	6.07±0.57b	6.16±2.01c	6.79±1.14a	6.28±0.79b	4.27±0.40b	4.05±0.62b	6.71±2.39ab	6.28±0.34b
	RN	6.71±0.86a	6.97±1.91a	6.24±1.37b	6.49±0.52a	4.84±0.65a	4.24±0.93a	7.26±0.38b	7.56±0.14a
	CN	5.42±0.73c	6.37±1.97b	6.34±2.74b	6.60±2.48a	4.86±0.24a	4.38±1.27a	6.34±1.14b	7.52±0.70a
	平均 Mean	6.07±0.65	6.50±0.42*	6.46±0.29	6.46±0.16	4.66±0.34	4.22±0.17	6.77±0.47	7.12±0.73*
2014	NN	2.79±0.41b	2.48±0.30b	3.60±0.69c	3.80±0.72b	6.41±0.62a	5.85±0.70a	6.24±0.35a	6.68±0.61a
	RN	3.35±0.39a	2.87±0.28a	4.00±0.79b	4.17±0.82ab	6.95±1.05a	6.21±0.93a	7.10±0.92ab	6.89±0.98a
	CN	2.92±0.39b	2.73±0.50ab	4.65±1.00a	4.63±0.67a	6.78±0.61a	6.04±1.06a	5.91±1.17b	6.11±1.26b
	平均 Mean	3.02±0.29*	2.69±0.20	4.08±0.53	4.20±0.42	6.72±0.28*	6.04±0.18	6.41±0.61	6.56±0.40
		ANOVA							
		F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
2013	种植模式 Planting pattern (A)	22.936	0.040 9	0.015	0.915 0	11.146	0.079 2	25.017	0.037 7
	施氮量 N application (B)	124.712	0.000 1	7.026	0.017 3	36.863	0.000 1	1.855	0.217 9
	A × B	26.453	0.000 3	46.557	0.000 1	5.758	0.028 2	18.75	0.001 0
2014	种植模式 Planting pattern (A)	37.513	0.025 6	0.305	0.636 3	155.705	0.006 4	5.713	0.139 4
	施氮量 N application (B)	29.566	0.000 2	6.892	0.018 2	29.807	0.000 2	172.456	0.000 1
	A × B	2.746	0.123 6	0.11	0.897 3	1.556	0.268 6	19.153	0.000 9

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著(P<0.05); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM (P < 0.05).

表 4　不同种植模式与施氮量下玉米根际土壤放线菌数量

Table 4　Actinomyces number of maize rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments　10^5 cfu·g^{-1}

年份 Year	施氮处理 N application treatment	大喇叭口期(V12) Twelfth leaf (bell stage)		抽雄期(VT) Tasseling stage		成熟期(R6) Full maturity	
		MM	IMS	MM	IMS	MM	IMS
2013	NN	10.55±0.94a	10.95±3.07b	10.55±3.31c	10.71±2.43c	11.14±2.13c	11.79±1.53b
	RN	10.74±1.84a	11.66±1.23b	12.52±3.90b	12.25±2.29b	11.45±2.16b	12.01±2.97b
	CN	10.76±2.33a	12.10±0.88a	12.96±2.47a	13.84±2.06a	11.81±2.23a	12.90±2.02a
	平均 Mean	10.68±0.12	11.57±0.58	12.01±1.29	12.27±1.56	11.47±0.33	12.23±0.59*
2014	NN	5.02±0.89c	5.88±0.85b	4.99±0.61c	5.18±0.6b	12.95±2.74b	14.08±2.49c
	RN	5.33±0.65b	6.21±1.02b	5.31±0.47b	5.52±0.50ab	14.01±3.40a	15.34±1.94b
	CN	6.05±0.85a	6.97±0.81a	5.84±0.43a	5.65±0.76a	12.36±1.92c	16.32±1.67a
	平均 Mean	5.37±0.53	6.35±0.56*	5.38±0.43	5.45±0.24	13.11±0.83	15.25±1.23*
		ANOVA					
		F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
2013	种植模式 Planting pattern (A)	143.234	0.006 9	20.08	0.046 4	125.22	0.007 9
	施氮量 N application (B)	83.826	0.000 1	1 362.564	0.000 1	62.242	0.000 1
	A × B	38.848	0.000 1	58.56	0.000 1	5.991	0.025 7
2014	种植模式 Planting pattern (A)	482.84	0.002 1	3.791	0.190 9	8 383.492	0.000 1
	施氮量 N application (B)	400.104	0.000 1	106.836	0.000 1	183.052	0.000 1
	A × B	0.321	0.734 5	12.462	0.003 5	320.265	0.000 1

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著(P<0.05); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM (P < 0.05).

表 5 不同种植模式与施氮量下大豆根际土壤放线菌数量

Table 5 Actinomyces number of soybean rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments 10^5 cfu·g^{-1}

年份 Year	施氮处理 N application treatment	五节期(V5) Fifth trifoliolate stage		盛花期(R2) Full bloom stage		鼓粒期(R5) Beginning seed stage		成熟期(R8) Full maturity	
		SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS
2013	NN	19.43±1.19b	21.34±0.88c	13.86±1.66c	14.05±2.71c	9.72±2.46c	9.52±2.67c	14.93±2.78b	14.41±3.18c
	RN	20.78±1.68a	21.79±1.10b	15.70±1.88b	17.32±1.83b	11.01±3.41a	13.07±2.14b	15.23±2.24a	18.26±2.54b
	CN	20.49±1.67a	22.35±1.50a	17.36±1.93a	17.86±2.47a	10.65±2.22b	16.59±2.66a	15.18±2.43a	23.27±2.49a
	平均 Mean	20.23±0.71	21.83±0.51*	15.64±1.75	16.41±2.06*	10.49±0.70	13.06±3.53*	15.11±0.16	18.65±4.45*
2014	NN	6.60±1.34b	9.42±1.52a	8.04±1.74c	9.11±2.14c	7.36±1.41c	10.61±1.88c	7.38±1.96b	11.13±2.59c
	RN	6.77±1.24b	9.59±1.79a	9.45±1.41b	11.47±1.83b	8.93±1.57b	10.84±2.36b	9.48±1.94a	12.30±2.26b
	CN	7.98±0.98a	8.75±1.81b	10.75±1.57a	12.41±1.47a	9.90±1.44a	12.04±2.08a	9.52±2.55a	13.34±2.09a
	平均 Mean	7.12±0.75	9.25±0.44*	9.41±1.36	11.00±1.70*	8.73±1.28	11.16±0.77*	8.80±1.22	12.26±1.11*
		ANOVA							
		F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
2013	种植模式 Planting pattern (A)	2 058.284	0.000 5	558.502	0.001 8	6 704.829	0.000 1	18 092.93	0.000 1
	施氮量 N application (B)	177.531	0.000 1	2 416.925	0.000 1	2 565.187	0.000 1	3 174.082	0.000 1
	A × B	35.859	0.000 1	97.226	0.000 1	1 523.704	0.000 1	2 856.753	0.000 1
2014	种植模式 Planting pattern (A)	5 973.103	0.000 2	1 435.983	0.000 7	3 330.637	0.000 3	2 009.018	0.000 5
	施氮量 N application (B)	18.65	0.001 0	1 004.106	0.000 1	1 077.009	0.000 1	946.838	0.000 1
	A × B	207.109	0.000 1	25.042	0.000 4	139.919	0.000 1	57.514	0.000 1

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著($P<0.05$); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著($P<0.05$)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM ($P < 0.05$).

高, 比 NN 和 RN 两年平均提高 15.69%和 7.6%。不同种植模式同样会影响大豆根际土壤放线菌数量, 与 SS 比, IMS 下大豆根际土壤放线菌数量均比 SS 高; 随着施氮量的增加, SS 下 RN 和 CN 的大豆根际土壤放线菌数量比 NN 两年平均提高 11.49%和 16.62%, IMS 下两年平均提高 15.11%和 27.13%。

2.1.3 土壤固氮菌数量

固氮菌作为特殊生理功能土壤微生物之一, 在氮素循环过程中具有重要作用。种植模式对大豆根际土壤固氮菌数量影响显著(表 6), 随生育时期的推进表现为先增后减, 大豆根际土壤固氮菌数量均为 IMS>SS, 且在 R2 期达到最高, R2 期下 IMS 比 SS 高 12.31%。各施氮水平间, 大豆根际土壤固氮菌数量均以 RN 的最高, SS 下 RN 比 NN 和 CN 分别高 17.78%和 5.67%, IMS 下 RN 比 NN 和 CN 分别高 10.46%和 2.85%。

2.2 不同种植模式和施氮量对土壤酶活性的影响

2.2.1 土壤蛋白酶活性

土壤蛋白酶作为一种土壤氮素转化关键酶, 能将蛋白质组分转化为氨基酸。不同种植模式对玉米根际土壤蛋白酶活性有影响(表 7), 玉米根际土壤蛋白酶活性为 IMS>MM, 抽雄期差异显著; 施氮量同样会影响玉米根际土壤蛋白酶活性, 以 RN 的最高, 成熟期 IMS 下根际土壤蛋白酶活性 RN 比 NN 和 CN 分别提高 8.33%和 11.43%。

与单作相比, 套作能提高大豆土壤蛋白酶活性(表 8), 以 V5 期最高, 该时期下 IMS 比 SS 提高 2.38%。各施氮水平间, R2 期 RN 比 CN 和 NN 分别提高 2.35%和 16%, R8 期 RN 比 CN 和 NN 分别提高 3.57%和 17.57%。

2.2.2 土壤脲酶活性

种植模式影响玉米土壤脲酶活性, 表现为 IMS>MM, 在 R6 期有显著差异(表 9)。玉米抽雄期 IMS 比 MM 提高 16.72%, 成熟期 IMS 比 MM 提高 20.56%。各施氮处理下, 以 RN 的玉米土壤脲酶活性最高, 表现为 RN>CN>NN。

大豆土壤脲酶活性随着生育进程的推进呈现出升高后降低的趋势, 在 R5 期达到最高(表 10)。这可能与大豆固氮能力增强后对氮肥的吸收变少, 土壤中有较高浓度的尿素, 使土壤中的脲酶活性处于较

表 6　不同种植模式与施氮量下大豆根际土壤固氮菌数量(2014)

Table 6　Azotobacteria number of soybean rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments in 2014　10^5 cfu·g^{-1}

施氮处理 N application treatment	五节期(V5) Fifth trifoliolate stage		盛花期(R2) Full bloom stage		鼓粒期(R5) Beginning seed stage		成熟期(R8) Full maturity	
	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS
NN	5.98±0.84c	7.19±0.83b	16.82±1.26ac	18.72±1.73b	14.94±1.78b	17.09±1.78b	14.95±1.78b	15.53±1.66c
RN	7.52±0.54b	8.03±1.10a	18.30±1.67ab	19.80±2.06a	18.44±1.12a	18.81±1.54a	17.80±1.62a	18.01±1.45a
CN	6.71±0.93a	7.50±1.04ab	16.77±1.27a	19.78±1.32ab	17.87±1.54a	18.44±1.12a	17.38±1.35a	17.14±1.35b
平均 Mean	6.74±0.77	7.57±0.42	17.30±0.62*	19.43±0.75	17.14±0.78	17.74±0.78	16.71±1.25	16.86±1.14
	ANOVA							
	F	P	F	P	F	P	F	P
种植模式 Planting pattern (A)	4.896	0.157 4	467.747	0.002 1	0.815	0.462 0	0.116	0.765 7
施氮量 N application (B)	9.258	0.008 3	4.642	0.045 9	16.795	0.001 4	84.06	0.000 1
A × B	0.8	0.482 3	0.683	0.532 1	0.08	0.923 4	2.325	0.16

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著(P<0.05); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM (P < 0.05).

表 7　不同种植模式与施氮量下玉米根际土壤蛋白酶活性(2014 年)

Table 7　Protease activity of maize rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments in 2014　IU·g^{-1}

施氮处理 N application treatment	抽雄期(VT) Tasseling stage		成熟期(R6) Full maturity	
	MM	IMS	MM	IMS
NN	0.32±0.02ab	0.39±0.03a	0.35±0.05a	0.36±0.02a
RN	0.33±0.03a	0.41±0.04a	0.36±0.03a	0.39±0.03a
CN	0.28±0.02c	0.29±0.03b	0.30±0.04b	0.35±0.03a
平均 Mean	0.31±0.03	0.37±0.06*	0.34±0.03	0.37±0.02
	ANOVA			
	F	P	F	P
种植模式 Planting pattern (A)	123.916	0.008 0	5.062	0.153 4
施氮量 N application (B)	11.628	0.004 3	2.788	0.120 6
A × B	1.838	0.220 4	1.123	0.371 7

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著(P<0.05); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM (P < 0.05).

表 8　不同种植模式与施氮量下大豆根际土壤蛋白酶活性(2014 年)

Table 8　Protease activity of soybean rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments in 2014　IU·g^{-1}

施氮处理 N application treatment	五节期(V5) Fifth trifoliolate stage		盛花期(R2) Full bloom stage		始粒期(R5) Beginning seed stage		成熟期(R8) Full maturity	
	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS
NN	0.37±0.01b	0.44±0.04a	0.35±0.01b	0.4±0.05a	0.37±0.03b	0.44±0.02a	0.36±0.03b	0.38±0.06a
RN	0.44±0.03a	0.43±0.04a	0.44±0.02a	0.43±0.03a	0.42±0.04a	0.42±0.03ab	0.45±0.02a	0.42±0.03a
CN	0.46±0.01a	0.42±0.02a	0.43±0.03a	0.42±0.02a	0.45±0.02a	0.39±0.04b	0.43±0.03a	0.41±0.06a
平均 Mean	0.42±0.05	0.43±0.01	0.41±0.05	0.42±0.02	0.41±0.04	0.42±0.03	0.41±0.05	0.40±0.02
	ANOVA							
	F	P	F	P	F	P	F	P
种植模式 Planting pattern (A)	0.45	0.571 6	2.528	0.252 8	0.271	0.654 5	0.118	0.763 6
施氮量 N application (B)	3.487	0.081 5	6.983	0.017 6	0.824	0.472 9	7.295	0.015 7
A × B	7.145	0.016 6	2.172	0.176 4	9.851	0.007 0	1.358	0.310 6

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著(P<0.05); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM (P < 0.05).

表 9 不同种植模式与施氮量下玉米根际土壤脲酶活性(2014 年)

Table 9 Urease activity of maize rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments in 2014 U·mg^{-1}

施氮处理 N application treatment	抽雄期(VT) Tasseling stage		成熟期(R6) Full maturity	
	MM	IMS	MM	IMS
NN	2.60±0.44b	3.14±0.13b	3.23±0.28b	3.86±0.1b
RN	3.38±0.32a	3.78±0.03a	4.15±0.16a	5.19±0.47a
CN	3.16±0.37a	3.76±0.24a	3.47±0.16b	3.97±0.32b
平均 Mean	3.05±0.40	3.56±0.36	3.60±0.48	4.34±0.74*
	ANOVA			
	F	*P*	*F*	*P*
种植模式 Planting pattern (A)	2.329	0.266 5	21.062	0.044 3
施氮量 N application (B)	0.821	0.473 8	15.499	0.001 8
A × B	5.461	0.032 0	0.833	0.469 1

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著($P<0.05$); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著($P<0.05$)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM ($P < 0.05$).

表 10 不同种植模式与施氮量下大豆根际土壤脲酶活性(2014 年)

Table 10 Urease activity of soybean rhizosphere soil under different planting patterns and N application treatments in 2014 U·mg^{-1}

施氮处理 N application treatment	五节期(V5) Fifth trifoliolate stage		盛花期(R2) Full bloom stage		始粒期(R5) Beginning seed stage		成熟期(R8) Full maturity	
	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS	SS	IMS
NN	2.63±0.3a	2.34±0.07a	3.32±0.11a	3.02±0.2a	3.72±0.19a	4.08±0.22a	3.45±0.03ab	3.30±0.3a
RN	2.61±0.43a	2.49±0.11a	3.58±0.3a	3.64±0.07a	4.14±0.35a	4.79±0.07a	3.97±0.27a	3.32±0.19a
CN	2.39±0.33a	2.69±0.2a	3.13±0.34a	3.59±0.18a	3.90±0.4a	4.59±0.21a	3.16±0.19b	3.28±0.16a
平均 Mean	2.55±0.13	2.50±0.18	3.34±0.23	3.42±0.34	3.92±0.21	4.49±0.37	3.52±0.41	3.30±0.02
	ANOVA							
	F	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*	*F*	*P*
种植模式 Planting pattern (A)	0.013	0.918 2	3.766	0.191 8	0.194	0.702 9	1.275	0.376 0
施氮量 N application (B)	0.039	0.962 1	0.135	0.875 4	1.209	0.347 7	1.945	0.204 9
A × B	0.725	0.513 4	1.739	0.236 0	1.161	0.361 0	1.822	0.222 8

同列数据后不同字母表示施氮量间差异显著($P<0.05$); IMS 处理平均值后的星号(*)表示 IMS 与 MM 差异显著($P<0.05$)。Different lowercase letters in the same column mean significant differences among N application treatments at 0.05 level. Asterisks (*) after the average of IMS indicate significant difference between IMS and MM ($P < 0.05$).

高的状态。在 R2 和 R5 期, 大豆根际土壤脲酶活性 IMS>SS。各施氮水平间, 大豆根际土壤脲酶活性以 RN 的最高。

2.3 土壤微生物数量、土壤酶活性与土壤养分含量及植株吸氮的相关关系

玉米根际土壤真菌、放线菌数量、脲酶活性, 大豆根际土壤蛋白酶与土壤养分和植株吸氮的相关关系达 5%或 1%显著水平(表 11)。其中, 玉米根际土壤真菌数量对土壤全氮影响最大, 玉米根际土壤脲酶、蛋白酶和大豆蛋白酶活性对土壤全磷的影响最大, 大豆根际土壤蛋白酶活性与土壤全钾有负相关性。玉米根际土壤细菌、真菌数量与植株吸氮呈极显著正相关关系。表明土壤微生物数量和土壤酶活性是影响土壤养分和植株吸氮的重要因素, 通过科学施用氮肥, 可以改变土壤中微生物数量, 提高土壤酶活性, 改善土壤环境。

3 讨论

3.1 套作和施氮对土壤微生物数量的影响

土壤微生物是土壤养分转化、循环的动力。前期研究表明, 玉米/大豆套作较相应单作提高了作物根际土壤中的细菌数量, 且减氮处理下作物根际土壤细菌数量最高[14]。本研究表明, 套作玉米根际土壤真菌数量和放线菌数量高于单作; 大豆根际土壤真菌、放线菌、固氮菌数量均为套作高于单作。张

表 11　土壤养分、作物吸氮量与土壤酶活性、土壤微生物数量的相关关系(2014 年)
Table 11　Correlation between soil nutrient content and crop nitrogen with soil enzyme activity and soil microbial quantity in 2014

作物 Crop	项目 Item	全氮 Total nitrogen	全磷 Total phosphorus	全钾 Total potassium	植株吸氮 Plant nitrogen
玉米 Maize	蛋白酶 Protease	0.656	0.877*	−0.453	0.761
	脲酶 Urease	0.422	0.918**	−0.518	0.328
	细菌 Bacterial	0.823*	0.261	0.595	0.971**
	真菌 Fungi	0.918**	0.609	−0.182	0.968**
	放线菌 Actinomycetes	0.886**	0.092	0.043	0.728
	固氮菌 Nitrogen fixation	—	—	—	—
大豆 Soybean	蛋白酶 Protease	0.605	0.941**	−0.877*	0.407
	脲酶 Urease	−0.025	−0.008	−0.189	0.174
	细菌 Bacterial	0.588	0.140	−0.276	0.579
	真菌 Fungi	0.207	0.311	−0.758	−0.309
	放线菌 Actinomycetes	0.265	0.597	−0.070	0.681
	固氮菌 Nitrogen fixation	0.607	0.361	−0.486	−0.288

向前等[18]研究表明, 玉米/花生、玉米/大豆间作土壤中细菌、真菌、放线菌和固氮菌的数量较玉米单作显著增加。游萍等[21]研究发现: 与只种植烤烟的连作方式比, 小麦烟草套种能提高土壤中细菌、真菌和放线菌数量。分析其原因可能是, 玉米/大豆套作中两种作物共生后, 作物根系生长交互, 促进根系分泌物增加, 作物残留为土壤微生物的生长提供腐殖质, 改善了玉米大豆土壤根际微环境, 有利于作物根际土壤微生物的繁殖[9]。同时, 本研究调查了玉米/大豆套作系统内, 作物不同生育阶段根际土壤微生物数量变化特征, 结果表明玉米、大豆在共生期与非共生期表现出不同的变化规律, 套作玉米根际土壤真菌数量在共生后(VT 期、R6 期)高于玉米单作, 这两种作物在共生后对根际土壤微生物数量的促进作用更强, 进一步表明玉米/大豆套作对作物根际土壤微生物数量的促进作用。马冬云等[22]研究表明, 小麦土壤放线菌和固氮菌数量会随着施氮量的增加而呈先增后减趋势[22]。本研究表明, 相同种植模式下施氮相较与不施氮更能提高玉米、大豆根际土壤真菌、放线菌和固氮菌数量; 各施氮水平间, 玉米根际土壤的真菌数量表现为减量施氮>常量施氮>不施氮, 大豆根际土壤真菌数量除盛花期外均以减量施氮的最高。可能是由于氮肥的过量施用会抑制酶活性和积累毒性化合物, 特别是对土壤菌根真菌有抑制作用, 长期不施氮肥不能保证作物的正常生长, 但过度施用氮肥会使土壤酸化, 不利于土壤微生物的繁殖[23]。

3.2　套作和施氮对土壤酶活性的影响

土壤酶是土壤中各类酶的总称, 土壤酶是催化诸多生物化学反应的一类蛋白质[24]。其中蛋白酶能够分解蛋白质、肽类为氨基酸, 参与调节生物的氮素代谢, 对土壤氮循环有着重要影响[25]。蛋白酶把有机氮转化为无机氮, 在脲酶作用下, 进行氨化作用生成铵离子, 改变土壤中有效氮含量, 因此土壤蛋白酶和脲酶对土壤氮循环有着重要作用[26]。徐强等[27]研究结果表明套作栽培的线辣椒根际、非根际土壤的蛋白酶、脲酶活性均高于单作。雍太文等[17]发现不同种植模式间以小麦/玉米/大豆套作处理的土壤脲酶和蛋白酶活性最高。孟亚利等[28]研究表明整个生育期麦棉套作下根际与非根际土壤酶活性均明显高于单作棉花。本研究表明, 套作下玉米、大豆根际土壤脲酶活性和蛋白酶活性比相应单作高; 可能是套作下两种作物根系分泌物调节了田间土壤 pH、温湿度等理化性质, 使根区环境得到调节, 促进土壤微生物活动, 使土壤酶活性较单作增强[29-30]。而大豆的根瘤固氮作用提高了玉米/大豆套作体系各作物的土壤总氮含量, 这样可能改变土壤氮素平衡和作物对氮肥的吸收, 从而影响土壤酶活性[31-32]。Deng 等[33]认为, 施肥可通过改善土壤水热状况和微生物区系来影响土壤酶活性。本试验所测定的 2 种土壤酶对氮肥有积极的响应, 玉米、大豆根际土壤蛋白酶活性和脲酶活性总体表现为施氮高于不施氮, 其中玉米根际土壤蛋白酶活性和脲酶活性均以减量施氮最高, 盛花期和成熟期的大豆根际土壤蛋白酶活性及大豆根际土壤脲酶活性以减量施氮为最高; 减量施氮有利于提高玉米、大豆根际土壤蛋白酶和脲酶活性, 适度减施氮肥对于提高土壤酶活性有重要意义。郭天财等[34]研究结果表明施 0~180 kg(N)·hm^{-2} 时有利于提高小麦土壤全氮和土壤酶活性, 脲酶活性则随施氮水平的提高而上升。适量施入氮肥能改善土壤养

分状况，作物根系会分泌出更多的相关酶来吸收氮素，保证作物的生长，且能促进土壤微生物的繁殖，最终提高土壤酶活性。

3.3 玉米/大豆套作下土壤氮素调控机制

土壤微生物参与土壤中物质循环与能量转化，土壤酶催化土壤中诸多重要的生物化学反应，二者是评价土壤肥力的重要指标。相关分析表明：土壤微生物数量、土壤酶活性与土壤养分和植株吸氮量有显著或者极显著正相关关系。玉米、大豆生长过程中根际土壤微生物数量和酶活性的变化反映出玉米、大豆生长影响根际土壤中微生物繁衍及酶活性高低，相反，根际土壤微生物的活动及酶活性的高低也会影响玉米大豆的生长，而氮肥施入量、土壤酶和土壤微生物三者之间密不可分，氮肥的施入促进作物根系生长，分泌物增多，提高了土壤酶活性，促进了土壤微生物的繁衍。间套作改善了作物根际微环境，降低氨化作用强度，保证了作物对NO_3^--N离子的吸收，减轻了NH_3挥发，提高了土壤的固氮作用[35-37]。玉米/大豆套作中两种作物的根系发生交互作用，根系分泌物调节了田间土壤温湿度等环境，增加了土壤中细菌、真菌、放线菌和固氮菌的数量，从而有利于调节作物对土壤中氮素转化，使土壤中的氮向利于作物吸收的形态转化，最终提高土壤中氮素的利用效率，施入氮肥能够促进土壤中微生物的繁殖，提高土壤酶活性。但是氮肥的施入会产生主要温室气体N_2O，因此对于玉米/大豆套作体系下施氮量的变化对温室气体排放有何影响还需进一步研究。

4 结论

种植模式和施氮量对玉米大豆套作系统下作物根际土壤微生物数量及土壤酶活性影响显著。套作相对单作提高了玉米、大豆根际土壤真菌、放线菌和固氮菌数量，套作体系下玉米根际土壤蛋白酶、脲酶活性和大豆根际土壤蛋白酶活性均显著升高；与常量施氮相比，减量施氮增加了玉米、大豆根际土壤真菌数量和大豆根际土壤固氮菌数量，提高了玉米的根际土壤蛋白酶活性、脲酶活性和大豆根际土壤脲酶活性，与不施氮相比，减量施氮增加了玉米、大豆根际土壤放线菌数量。微生物及土壤酶对土壤环境的变化十分敏感，合理的种植模式能优化作物根际微环境，氮肥的施入调节作物根际土壤环境，促进土壤氮素循环，增加土壤养分有效性，为研究间套作下合理科学施肥提供理论依据。

参考文献 References

[1] Dick W A. Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities[J]. Soil Science Society of America Journal, 1984, 48(3): 569–574

[2] 孙建，刘苗，李立军，等. 免耕与留茬对土壤微生物量C、N及酶活性的影响[J]. 生态学报，2009，29(10): 5508–5515
Sun J, Liu M, Li L J, et al. Influence of non-tillage and stubble on soil microbial biomass and enzyme activities in rain-fed field of Inner Mongolia[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(10): 5508–5515

[3] Tiquia S M, Lloyd J, Herms D A, et al. Effects of mulching and fertilization on soil nutrients, microbial activity and rhizosphere bacterial community structure determined by analysis of TRFLPs of PCR-amplified 16S rRNA genes[J]. Applied Soil Ecology, 2002, 21(1): 31–48

[4] 严君，韩晓增，王树起，等. 不同形态氮素对种植大豆土壤中微生物数量及酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2010, 16(2): 341–347
Yan J, Han X Z, Wang S Q, et al. Effects of different nitrogen forms on microbial quantity and enzymes activities in soybean field[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(2): 341–347

[5] Crecchio C, Curci M, Pellegrino A, et al. Soil microbial dynamics and genetic diversity in soil under monoculture wheat grown in different long-term management systems[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(6): 1391–1400

[6] Burns R G. Enzyme activity in soil: Location and a possible role in microbial ecology[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1982, 14(5): 423–427

[7] Li L, Sun J H, Zhang F S, et al. Wheat/maize or wheat/soybean strip intercropping: Ⅰ. Yield advantage and interspecific interactions on nutrients[J]. Field Crops Research, 2001, 71(2): 123–137

[8] 苏本营，陈圣宾，李永庚，等. 间套作种植提升农田生态系统服务功能[J]. 生态学报, 2013, 33(14): 4505–4514
Su B Y, Chen S B, Li Y G, et al. Intercropping enhances the farmland ecosystem services[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(14): 4505–4514

[9] 雍太文，杨文钰，向达兵，等. 不同种植模式对作物根系生长、产量及根际土壤微生物数量的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 125–132
Yong T W, Yang W Y, Xiang D B, et al. Effects of different cropping modes on crop root growth, yield, and rhizosphere soil microbes' number[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(1): 125–132

[10] 雍太文，杨文钰，任万军，等. 两种三熟套作体系中的氮素转移及吸收利用[J]. 中国农业科学, 2009, 42(9): 3170–3178
Yong T W, Yang W Y, Ren W J, et al. Analysis of the nitrogen transfer, nitrogen uptake and utilization in the two relay-planting systems[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(9): 3170–3178

[11] 雍太文，杨文钰，樊高琼，等. "麦/玉/豆"套作种植模式氮肥周年平衡施用初步研究[J]. 中国土壤与肥料，2009，(3):

31–35
Yong T W, Yang W Y, Fan G Q, et al. Study on the annual balance application of nitrogen fertilizer in the relay-planting system of "wheat/maize/soy-bean"[J]. Soils and Fertilizers Sciences in China, 2009, (3): 31–35
[12] 雍太文, 刘小明, 刘文钰, 等. 减量施氮对玉米-大豆套作系统下作物氮素吸收和利用效率的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(13): 4473–4482
Yong T W, Liu X M, Liu W Y, et al. Effects of reduced nitrogen application on nitrogen uptake and utilization efficiency in maize-soybean relay strip intercropping system[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(13): 4473–4482
[13] 雍太文, 刘小明, 宋春, 等. 种植方式对玉米-大豆套作体系中作物产量、养分吸收和种间竞争的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(6): 659–667
Yong T W, Liu X M, Song C, et al. Effect of planting patterns on crop yield, nutrients uptake and interspecific competition in maize-soybean relay strip intercropping system[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(6): 659–667
[14] 周丽, 付智丹, 杜青, 等. 减量施氮对玉米/大豆套作系统中作物氮素吸收及土壤氨氧化与反硝化细菌多样性的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(6): 1076–1087
Zhou L, Fu Z D, Du Q, et al. Effects of reduced N fertilization on crop N uptake, soil ammonia oxidation and denitrification bacteria diversity in maize/soybean relay strip intercropping system[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(6): 1076–1087
[15] 毛璐, 宋春, 徐敏, 等. 栽培模式及施肥对玉米和大豆根际土壤磷素有效性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(12): 1502–1510
Mao L, Song C, Xu M, et al. Effects of cropping patterns and fertilization on rhizosphere soil phosphorus availability of maize/soybean relay intercropping system[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(12): 1502–1510
[16] Ghosh P K, Manna M C, Bandyopadhyay K K, et a1. Interspecific interaction and nutrient use in soybean/sorghum intercropping system[J]. Agronomy Journal, 2006, 98(4): 1097–1108
[17] 雍太文, 杨文钰, 向达兵, 等. 不同种植模式对土壤氮素转化及酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(12): 3227–3235
Yong T W, Yang W Y, Xiang D B, et al. Effects of different planting modes on soil nitrogen transformation and related enzyme activities[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(12): 3227–3235
[18] 张向前, 黄国勤, 卞新民, 等. 施氮肥与隔根对间作大豆农艺性状和根际微生物数量及酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2012, 49(4): 731–739
Zhang X Q, Huang G Q, Bian X M, et al. Effects of nitrogen fertilization and root separation on agronomic traits of intercropping soybean, quantity of micro organisms and activity of enzymes in soybean rhizosphere[J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, 49(4): 731–739
[19] 梁国鹏, Albert H A, 吴会军, 等. 施氮量对夏玉米根际和非根际土壤酶活性及氮含量的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(6): 1917–1924
Liang G P, Albert H A, Wu H J, et al. Soil nitrogen content and enzyme activities in rhizosphere and non-rhizosphere of summer maize under different nitrogen application rates[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(6): 1917–1924
[20] 周德庆, 徐德强. 微生物学实验教程[M]. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2013: 109–121, 272–375
Zhou D Q, Xu D Q. Microbiology Experiment Course[M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2013: 109–121, 272–375
[21] 游萍, 鲁凤, 熊云艳, 等. 不同种植模式对烟田土壤微生物数量的影响[J]. 贵州工程应用技术学院学报, 2015, 33(5): 141–145
You P, Lu F, Xiong Y Y, et al. Effects of different planting patterns on amount of soil microorganisms in tobacco fields[J]. Journal of Guizhou University of Engineering Science, 2015, 33(5): 141–145
[22] 马冬云, 郭天财, 宋晓, 等. 尿素施用量对小麦根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5222–5228
Ma D Y, Guo T C, Song X, et al. Effects of urea application rate on the quantity of microorganisms and activity of enzymes in wheat rhizosphere[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5222–5228
[23] Arnebrant K, Bååth E, Söderström B. Changes in microfungal community structure after fertilization of scots pine forest soil with ammonium nitrate or urea[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1990, 22(3): 309–312
[24] 边雪廉, 赵文磊, 岳中辉, 等. 土壤酶在农业生态系统碳、氮循环中的作用研究进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(4): 171–178
Bian X L, Zhao W L, Yue Z H, et al. Research process of soil enzymes effect on carbon and nitrogen cycle in agricultural ecosystem[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(4): 171–178
[25] Kamimura Y, Hayano K. Properties of protease extracted from tea-field soil[J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 30(4): 351–355
[26] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 291–297
Guan S Y. Soil Enzyme and Its Research Methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 291–297
[27] 徐强, 程智慧, 孟焕文, 等. 玉米线辣椒套作对线辣椒根际、非根际土壤微生物、酶活性和土壤养分的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(3): 94–99
Xu Q, Cheng Z H, Meng H W, et al. Effect of the capsicum and maize intercropping on soil microbe number, soil enzyme activity and soil nutrient content at the capsicum rhizosphere and non-rhizosphere zones[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2007, 25(3): 94–99
[28] 孟亚利, 王立国, 周治国, 等. 套作棉根际与非根际土壤酶活性和养分的变化[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2076–2080
Meng Y L, Wang L G, Zhou Z G, et al. Dynamics of soil enzyme activity and nutrient content in intercropped cotton rhizosphere and non-rhizosphere[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(11): 2076–2080

[29] 彭少麟, 邵华. 化感作用的研究意义及发展前景[J]. 应用生态学报, 2001, 12(5): 780–786
Peng S L, Shao H. Research significance and foreground of allelopathy[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2001, 12(5): 780–786
[30] 阎飞, 杨振明, 韩丽梅. 论农业持续发展中的化感作用[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 633–635
Yan F, Yang Z M, Han L M. Allelopathy in sustainable development of agriculture[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2001, 12(4): 633–635
[31] Sun Y M, Zhang N N, Wang E T, et al. Influence of intercropping and intercropping plus rhizobial inoculation on microbial activity and community composition in rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.) and Siberian wild rye (*Elymus sibiricus* L.)[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 70(2): 218–226
[32] Inal A, Gunes A, Zhang F, et al. Peanut/maize intercropping induced changes in rhizosphere and nutrient concentrations in shoots[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2007, 45(5): 350–356
[33] Deng S P, Tabatabai M A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: Ⅲ. Phosphatases and arylsulfatase[J]. Biology and Fertility of Soils, 1997, 24(2): 141–146
[34] 郭天财, 宋晓, 马冬云, 等. 施氮量对冬小麦根际土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(1): 110–114
Guo T C, Song X, Ma D Y, et al. Effects of nitrogen application rate on soil enzyme activities in wheat rhizosphere[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(1): 110–114
[35] Stuelpnagel R. Intercropping of faba bean (*Vicia faba* L.) with oats or spring wheat[C]//Proceedings of International Crop Science Congress. Iowa, Ames: Iowa State University, 1992: 14–22
[36] Zhou X M, Mackenzie A F, Madramootoo C A, et al. Management practices to conserve soil nitrate in maize production systems[J]. Journal of Environmental Quality, 1997, 26(5): 1369–1374
[37] Li W X, Li L, Sun J H, et al. Effects of intercropping and nitrogen application on nitrate present in the profile of an Orthic Anthrosol in Northwest China[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2005, 105(3): 483–491